

UNIVERSITE DE MOHAMED KHIDER BISKRA
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

TRAVAUX PRATIQUES DE BIOLOGIE CELLULAIRE

2020/2021

RECOMMANDATIONS IMPORTANTES

Les étudiants sont priés de :

- Arriver à l'heure pour ne pas perturber le déroulement de la séance ;
- Travailler par monôme et parfois par binôme ;
- Porter une blouse blanche propre ;
- Préparer la séance de TP : lire attentivement le texte du fascicule correspondant à la manipulation du jour ;
- Nettoyer sa paillasse à la fin de chaque séance.
- Se munir de matériel de dessin : feuilles de dessin blanches non quadrillées format A4, crayon graphite HB, gomme, taille, règle, compas, boîte de couleur.

توصيات مهمة

يطلب من الطلاب:

- الوصول في الوقت المحدد حتى لا يعطل سير الدورة ؛
- العمل فردي وأحياناً في أزواج ؛
- ارتداء معطف كامل أبيض نظيف (بذراعين وتقفل باحكام).
- إعداد العمل العملي: اقرأ بعناية بروتوكول الجلسة قبل المجيء للحصة؛
- نظف مكانك في نهاية كل جلسة.
- إحضار مواد الرسم: أوراق رسم بيضاء غير مخططة مقاس A4 ، قلم رصاص HB جرافيت ، ممحاة ، حجم ، مسطرة ، ألون،

Réalisation des copies

- Les copies doivent être réalisées entièrement au crayon ;
- Sur chaque feuille doit figurer :
 - en haut et à gauche votre nom et prénom, votre numéro de groupe,
 - en haut et à droite la date
 - au milieu le thème et le titre du TP
- Ne jamais dessiner recto-verso, une seule face du papier doit être employée pour une bonne présentation ;
- D'une façon générale, le dessin doit reproduire fidèlement l'image que donne le microscope (agrandir l'image en lui conservant ses proportions et sa disposition) et donner la valeur du grossissement ;
- Deux dessins par feuille au maximum ;
- Tout dessin doit être accompagné d'une légende complète, sinon le travail n'a aucune valeur. Les flèches doivent être, dans la mesure du possible, toutes situées du même côté du dessin à droite en général et dirigées vers le dessin, les écrire horizontalement. Les flèches doivent être tracées à la règle et parallèlement les unes aux autres.

كيفية تحرير تقرير العمل

- يجب تحرير العمل بالكامل بالقلم الرصاص ؛
- يجب أن يظهر على كل ورقة:

في الأعلى وعلى اليسار اسمك واسمك الأول ورقم مجموعتك ، وفي الجزء العلوي وعلى اليمين التاريخ، وفي المنتصف الموضوع وعنوان TP

- لا تقم أبدًا برسم ظهر الورقة، فقط يجب استخدام وجه واحد للورق لتقديم عرض جيد ؛
- بشكل عام ، يجب أن يكون الرسم معبراً للصورة التي قدمها المجهر بأمانة (تكبير الصورة مع الحفاظ على نسبها وترتيبها) وإعطاء قيمة التكبير المستعمل؛
- رسمان لكل ورقة كحد أقصى ؛
- يجب أن تكون جميع الرسومات مصحوبة بتعليق كامل ، وإلا فلن يكون للعمل أي قيمة. يجب أن تكون جميع أسهم البيانات ، قدر الإمكان ، موجودة على نفس الجانب من الرسم على اليمين بشكل عام وموجهة نحو الرسم ، اكتبها أفقيًا. يجب رسم الأسهم بشكل مستقيم ومتوازي مع بعضها البعض.

TP1. PRÉSENTATION DU MICROSCOPE PHOTONIQUE

I. DÉFINITION

C'est un instrument d'optique qui permet d'observer des objets très minces (qui peuvent être traversés par la lumière) en les grossissant (15 à 1800 fois). L'objet à observer appelé préparation est entre une lame et une lamelle de verre. Il existe d'autres microscopes, dits microscopes électroniques, qui permettent des grossissements plus importants.

أولاً - التعريف

إنها أداة بصرية تجعل من الممكن مراقبة الأجسام ذات سمك رقيق جدًا (التي يمكن أن يعبرها الضوء) عن طريق تكبيرها (من 15 إلى 1800 مرة). الكائن المراد ملاحظته يسمى تحضير أو عينة بين شريحة وساترة زجاجية. هناك مجاهر أخرى ، تسمى المجاهر الإلكترونية ، والتي تسمح بتكبير أكبر.

II. PRINCIPE PHYSIQUE DU MICROSCOPE (VOIR : COURS BIOLOGIE CELLULAIRE)

Le microscope photonique utilise un flux ondulatoire de particules (FP) non chargées, les photons, au travers d'un système de lentilles (L1, L2 et L3) de manière à former d'un objet (O) à étudier (AB) une image agrandie (A'B') sur un écran E

S : source de lumière

L1 : lentille condensatrice

O : objet à étudier de dimension AB

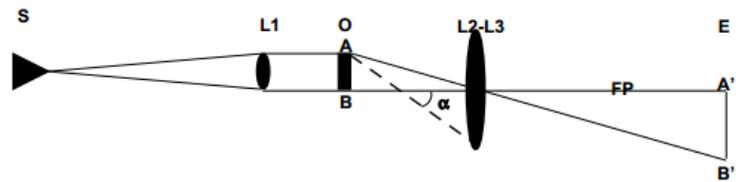
α : Demi-angle d'ouverture de l'objectif

L2, L3 : respectivement l'objectif et

l'oculaire

FP : faisceau de particule

E : écran permettant de voir l'image A'B' obtenue de l'objet O à étudier.



II. المبدأ الفيزيائي للميكروسكوب (انظر: الدرس)

يستخدم المجهر الضوئي تدفقًا متموجًا للجسيمات غير المشحونة (FP) ، والفوتونات ، تمر عبر نظام من العدسات (L1 و L2 و L3) وذلك لتشكيل كائن (O) ليتم دراسته (AB) صورة مكبرة (A'B') على الشاشة E.

S: مصدر الضوء / L1: عدسة التكثيف / O: الكائن المراد دراسته بالبعد AB / α : زاوية فتح نصف العدسة الشيئية / L2 ، L3: على التوالي العدسة الشيئية والعينية / FP: شعاع الجسيمات / E: الشاشة السماح لرؤية الصورة A'B' التي تم الحصول عليها من الكائن O المراد دراسته.

III. LES DIFFÉRENTES PARTIES DU MICROSCOPE PHOTONIQUE ET LEURS RÔLES

Microscope optique

Les différentes parties du microscope :

I. Parties statiques

1 : La potence 2 : Pied ou socle 3 : Platine

II. Parties mobiles

4 : Vis macrométrique 5 : Vis micrométrique 6 : Vis de déplacement avant – arrière (vernier) 7 : Vis de déplacement droite – gauche (vernier) 8 : Vis de déplacement haut- bas du condenseur

III. Parties optiques

9 : Oculaire 10 : Porte oculaire 11 : Revolver 12 : Objectifs 13 : Préparation (lame)

IV. Éclairage

14 : Condenseur 15 : Diaphragme 16 : Porte filtre 17 : Lampe 18 : Interrupteur

مختلف اجزاء المجهر

I. الأجزاء الثابتة

1: الجذع ، 2: القدم أو القاعدة، 3: اللوحة،

II. أجزاء متحركة

4: برغي قياس الماكرو، 5: برغي قياس ميكرو، 6: برغي التنقل أمام – خلف (الورنية)، 7: لولب التنقل يمين – يسار (الورنية)، 8: برغي التنقل الى الاعلى – اسفل المكثفة.

III. الأجزاء البصرية

9: العدسة العينية، 10: حامل العدسة العينية، 11: مسدس، 12: العدسات الشيئية، 13: التحضير (الشريحة الزجاجية)

IV. الإضاءة

14: مكثفة، 15: الحجاب الحاجز، 16: حامل المرشح، 17: مصباح، 18: القاطعة

On peut classer les différentes parties d'un microscope selon leur fonction en cinq catégories :

1. Fonction de maintien de la préparation : le maintien de la préparation microscopique est assuré par la platine et les deux valets.

2. Fonctions de grossissement de la préparation : on distingue dans cette catégorie les éléments suivants :

2.1. **L'oculaire** grossit la préparation comme une loupe. Un chiffre gravé dessus indique son pouvoir grossissant (ex : X10).

2.2. **Les objectifs** : Ils sont en général au nombre de 3 et situés à l'extrémité inférieure du tube optique. Ils complètent le système grossissant. Sur chacun d'eux, un chiffre indique le pouvoir grossissant (ex. x40, x100). Pour en changer, il suffit de tourner le revolver.

يمكن تصنيف الأجزاء المختلفة من المجهر وفقاً لوظيفتها إلى خمس فئات:

1. وظيفة صيانة التحضير (العينية): يتم الحفاظ على التحضير المجهرى بواسطة اللوحة والرافعتان.

2. وظائف تكبير التحضير (العينية): تميز العناصر التالية في هذه الفئة:

2.1. العدسة العينية: تقوم العدسة العينية بتكبير التحضير (العينية) كعدسة مكبرة. يشير الرقم المنقوش أعلاه إلى قدرته المكبرة

(على سبيل المثال: X10)

2.2. العدسات الشيئية: عادة عددها 3 أو اربعة وتقع في الطرف السفلي من الأنبوب البصري (فوق التحضير). يكملون نظام

التكبير. في كل منها ، هناك لرقم يشير إلى القوة المكبرة (مثل x40، x100). لتغييره ، فقط أدر المسدس.

3. Fonction d'éclairage de la préparation : l'éclairage de la préparation microscopique est assuré par une lampe halogène qui envoie la lumière vers la préparation microscopique via le condenseur. La lumière traverse l'objet et "emporte" son image vers des lentilles de verre (placées dans l'objectif et l'oculaire) qui l'agrandissent. C'est en plaçant son oeil sur l'oculaire que l'on voit cette image.

4. Fonction de mise au point : La mise au point s'effectue en tournant la vis macrométrique qui permet les mouvements rapides et importants du tube optique. Cette mise au point est souvent complétée par l'utilisation de la vis micrométrique dont la rotation assure des mouvements très lents (invisible à l'oeil nu) du tube optique.

5. Fonction de soutien : La potence supporte l'ensemble des pièces du microscope (tube optique, platine et lampe). Souvent, il est possible de l'incliner par rapport à la base ou socle qui reste fixe et qui maintient le microscope sur la table.

3. وظيفة إضاءة التحضير: يتم توفير إضاءة المستحضر (العينه) بواسطة مصباح هالوجين يرسل الضوء إلى المستحضر من خلال المكثف. يمر الضوء عبر الشيء المراد رؤيته و "يحمل" صورته باتجاه العدسات الزجاجية (المتواجدة على مستوى العدسات الشيئية والعينية) التي تكبرها. من خلال وضع عينك على العدسة يمكنك رؤية هذه الصورة.

4. وظيفة الإيضاح: يتم التركيز عن طريق تدوير البرغي الكبير الذي يسمح بحركات سريعة وكبيرة للأنبوب البصري. غالبًا ما يتم استكمال هذا الايضاح باستخدام البرغي الميكرو، والذي يضمن دورانه حركات بطيئة جدًا (غير مرئية للعين المجردة) للأنبوب البصري.

5. وظيفة الدعم: الحامل يدعم جميع أجزاء المجهر (الأنبوب البصري ، اللوحة والضوء). غالبًا ما يكون من الممكن إمالاته بالنسبة إلى القاعدة أو القاعدة التي تظل ثابتة والتي تحافظ على المجهر على الطاولة.

IV. MODE D'EMPLOI DU MICROSCOPE

1 - PRENDRE LE MICROSCOPE :

Le microscope est pris sans mouvement brusque par la potence ou poignée une main sous le socle. Il ne faut pas pencher le microscope au risque de faire tomber l'oculaire à l'extrémité du tube optique.

2- UTILISER LE MICROSCOPE :

étape n°1 : Régler la lumière.

Il faut orienter la lumière vers le miroir de façon à ce que la lumière soit dirigée dans l'axe du tube optique. Le diaphragme permet de régler l'intensité de la lumière pendant l'observation.

étape n°2 : Placer la lame.

La lame se glisse sur la platine, sous les ressorts, de telle façon que la partie que nous désirons observer, soit au dessus et placée au milieu du trou central. Si la préparation est munie d'une étiquette, celle-ci doit être visible.

étape n°3 : Choisir les objectifs.

Une observation doit toujours commencée par le plus petit objectif (celui qui a le moins fort grossissement). Cela permet de trouver le meilleur endroit à observer.

étape n°4 : Faire la mise au point. Procéder comme suit :

- Régler la netteté :

Grâce à la vis macrométrique (grosse vis) il faut descendre les objectifs au plus bas sans regarder dans l'oculaire pour ne pas casser la lame. Ensuite il faut remonter tout doucement les objectifs jusqu'à ce que l'image soit nette. La petite vis (vis micrométrique permet un réglage plus fin pour des objectifs plus forts)

- Déplacer la lame :

Le déplacement apparent de la lame se fait en sens inverse du déplacement réel, c'est-à-dire que si tu pousses la lame vers la droite, l'image se déplacera vers la gauche.

IV. تعليمات استخدام المجهر

1 - خذ المجهر: يؤخذ المجهر بدون حركة مفاجئة من الجذع أو المقبض بيد واحدة تحت القاعدة. لا تقم بإمالة المجهر لأن هذا قد يسقط العدسة في نهاية الأنبوب البصري.

2- استخدم المجهر:

الخطوة رقم 1: ضبط الضوء. يتم توجيه الضوء في محور الأنبوب البصري ونستطيع التحكم في شدته. كما يتم استخدام الحجاب الحاجز لضبط شدة الضوء أثناء الملاحظة.

الخطوة 2: ضع الشريحة. تنزلق الشريحة على اللوحة ، أسفل **الينابيع** ، بحيث يكون الجزء الذي نريد مراقبته أعلى ويوضع في منتصف الفتحة المركزية. إذا كان للمستحضر ملصق ، فيجب أن يكون مرئيًا.

الخطوة 3: اختر الأهداف. يجب أن تبدأ الملاحظة دائمًا بأصغر هدف (الهدف الأقل تكبيرًا). هذا يجعل من الممكن العثور على أفضل مكان للمراقبة.

الخطوة رقم 4: الايضاح. استكمل كما يلي:

- **ضبط الوضوح:** بفضل البرغي اللولبي الكبير (البرغي الكبير) ، من الضروري خفض العدسات الشيئية إلى أدنى المستويات دون النظر إلى العدسة العينية حتى لا تنكسر الشريحة. ثم عليك رفع العدسات الشيئية ببطء حتى تصبح الصورة واضحة. البرغي الصغير يسمح بضبط أدق للعدسات الشيئية الأقوى.

- **تحريك الشريحة:** تكون الحركة الظاهرة للشريحة في الاتجاه المعاكس للحركة الفعلية ، أي إذا قمت بدفع الشريحة إلى اليمين ، فستتحرك الصورة إلى اليسار.

3 - RANGER LE MICROSCOPE :

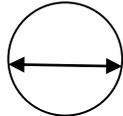
Lorsque nos observations sont terminées, nous rangeons le microscope afin qu'il ne prenne pas la poussière. Il doit être maintenu très propre et si besoin est, nous essuierons la poussière qui aurait pu se déposer sur les lentilles, avec un chiffon doux imprégné d'alcool.

3 - ارجع وترتيب المجهر:

عندما تنتهي ملاحظتنا ، يجب قطع التيار الكهربائي عليه وإزالة الشرائح ، ثم نضع المجهر بعيدًا حتى لا يجمع الغبار. يجب أن تظل نظيفة للغاية وإذا لزم الأمر ، سنقوم بمسح أي غبار قد يكون قد استقر على العدسات بقطعة قماش ناعمة مشربة بالكحول او مادة كيميائية مناسبة.

V. NOTIONS THÉORIQUES

- **Un champ microscopique** ou champ d'observation est la zone d'observation éclairée qui apparaît au manipulateur lors d'une observation au microscope :



Diamètre du champ microscopique

Le diamètre du champ microscopique est fonction de l'objectif utilisé : il est donc nécessaire de le connaître pour chacun des objectifs que l'on utilise. Ceci permet d'estimer la taille des objets que l'on observe.

- **Grossissement:** Le grossissement d'un objet est le produit du grossissement de l'objectif par celui de l'oculaire: on note par exemple: $G=10 \times 60$ ou $(\times 600)$.

- **Pouvoir de séparation ϵ ou limite de résolution**

Le pouvoir séparateur ou **limite de résolution** est la plus petite distance séparant deux objets que l'on

peut distinguer à l'aide du microscope: elle dépend de la qualité des lentilles et de la nature même de la lumière: elle est au maximum de $0,2 \mu\text{m}$.

$$\varepsilon = \frac{0.61 \lambda}{n \sin \alpha}$$

Où, $0,61 =$ constante
 $\lambda =$ longueur d'onde du rayonnement utilisé
 $\alpha =$ demi angle d'ouverture de l'objectif
 $n =$ indice de réfraction du milieu transparent qui sépare l'objet de l'objectif (l'air ou l'huile à immersion)

On peut augmenter ε en plaçant une goutte **d'huile à immersion** (huile incolore dans laquelle la lumière se propage à la même vitesse que dans le verre) sur la préparation: on réalise alors une observation "à l'immersion", l'huile remplaçant l'air entre l'objet et l'objectif.

VI. APPLICATIONS :

1. DÉTERMINATION DU DIAMÈTRE DU CHAMP MICROSCOPIQUE

- Découper un morceau de papier millimétré d'environ 1 cm par 1 cm, et le coller sur une lame de verre avec du ruban adhésif. Observer le papier avec les objectifs x4, x10, puis x40.

- En utilisant comme référence, le quadrillage du papier millimétré (1 carreau = 1 mm), estimer pour chaque objectif, le diamètre d'un champ d'observation (en mm et en μm). Pour cela remplir le tableau ci-dessous :

Grossissement oculaire	Grossissement objectif	Grossissement total	Diamètre du champ microscopique (mm)
X10	Faible grossissement X4		n
X10	Moyen grossissement X10		$(40/10) \times n = n'$
X10	Fort grossissement X40		$(40/40) \times n = n''$

Conclure.

2. LE POUVOIR DE SÉPARATION :

2.1. Dessiner sur un morceau de papier millimétré deux points très rapprochés qui vous paraissent confondus ; coller le morceau sur une lame avec du ruban adhésif.

2.2. Observer aux deux objectifs x10 et x40. Qu'observez-vous ?

Conclure

